Regenerationsversuche an Blatt- und Stengelstücken von Begonia-Arten

von

MANFRED PASCHKE

aus Breslau

Erlangen 1963

1963 № 16

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536505_0074

Regenerationsversuche an Blatt- und Stengelstücken von Begonia-Arten

Inauguraldissertation

der Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von

Manfred Paschke

aus Breslau

Erlangen 1963

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 20. 2. 63
Dekan: Universitätsprofessor Dr. H. Volz
1. Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. E.Haustein
2. Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. W.Haupt

Fotodruck: Mikrokopie G.m.b.H. München 2, Weinstr. 4

Inhalt.

Lebenslauf: Seite 4
Zusammenfassung: Seite 5
Einleitung: Seite 6
Material und Methode: Seite 6
Ergebnisse: Seite 9
Diskussion: Seite 21
Literatur: Seite 24
Anhang: Seite 27
(Tabellen, Kurven, Zeichnungen)

Lebenslauf.

Am 6. Juni 1936 wurde ich in Breslau als Sohn des jetzigen Verwaltungsoberinspektors Helmut Paschke geboren. Ich besuchte von 1942 bis 1946 die Volksschulen in Breslau und Coburg, wohin ich nach der Vertreibung übersiedelte. Das Gymnasium Casimirianum (von September 1946 bis Februar 1953) und anschliessend das Neue Gymnasium in Nürnberg waren die weiteren Stationen meiner Schulausbildung. Nach dem Erhalt des Reifezeugnisses am 13.7.1954 studierte ich ab Wintersemester 1954 an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen, zunächst Chemie, später Botanik. Von Herrn Professor Dr. Haustein erhielt ich 1959 das Thema dieser Arbeit, die ich bis Ende 1962 am Botanischen Institut durchführte. Ab Mai 1960 bis Februar 1963 war ich dort auch als studentische bzw. wissenschaftliche Hilfskraft beschäftigt. Am 20.2.63 legte ich die mündliche Doktorprüfung in Botanik, Chemie und Physik ab. Vom 4. 3. 63 an bin ich wissenschaftlicher Mitarbeiter am Biologischen Institut der Kernforschungsanlage Jülich.

Zusammenfassung.

Die Blätter von B. rex sind durch ein ausserordentlich gutes Regenerationsvermögen ausgezeichnet. Dadurch werden Aussagen über die Wirksamkeit künstlich gebotener Substanzen sehr erschwert. Auf der Suche nach einer Art, deren Blätter eine geringere Fähigkeit zur Organneubildung besitzen, wurde die B.x lucerna als für Versuche besonders günstig ermittelt. Ihre Blätter sind jedoch gegen Sterilisation sehr anfällig, sodass die Kultur auf einem mit Agar-Agar verfestigtem Nährboden nicht erfolgen konnte. Die Nährlösung wurde deshalb in einem anorganischen Medium (Quarz, Seesand und Kieselgur) aufgesaugt, sodass sich eine völlige Sterilisation erübrigte. Zu einer Verminderung der Verpilzung wurden die Blätter jedoch mit Orthocid behandelt, und dann in Stücke der Grösse 1,5 x 2 cm mit deutlichem Mittelnerv geschnitten und in Kultur genommen. Die Ergebnisse an diesen Blattstücken zeigten, dass sowohl Wuchsstoffe als auch Purine allein fast immer nur Wurzeln induzieren. Nur bei Kulturen, die im Februar und März angesetzt wurden, erschienen nach 1 1/2 bis 6 Monaten auch Sprosse. Eine Kombination von Wuchsstoff und Purin ergab eine fast gleichzeitige Wurzel- und Sprossbildung bei allen Kulturen. Bei Stengelstücken, die in einer Länge von 2,5 cm auf verschiedene Art gewonnen wurden, erfolgte die Wurzelanlage bevorzugt an den Stellen, die nur schwach verholzt waren, also in unmittelbarer Nähe der Knotenregion. Sprosse entstanden, wenn überhaupt, nur apikal.
Aus diesen Ergebnissen wird gefolgert, dass zumindest für die Sprossregeneration an Blättern keinesfalls ein Stoff alleine, sondern eine Kombination, künstlich hergestellt aus Adenin und NES, verantwortlich ist. Wird nur eine Komponente geboten, erfolgt erst dann Sprossbildung, wenn das Blattstück eine genügende Menge des anderen Stoffes gebildet und am basalen Ende angereichert hat. Die Bildung dieser Stoffe ist jedoch abhängig von Jahreszeit und Licht. Bei Stengelstücken erfolgt die Leitung solcher Substanzen akropetal.

Einleitung.

Die Fähigkeit zur Organneubildung ist schon bei vielen Objekten eingehend untersucht worden (6), (7), (11), (23), (34) so auch an Blättern der Gattung Begonia, quantitativ und unter genau definierten Bedingungen u.a. von Hartsema (1926) (13) und Wirth (1959) (35). Für alle diese Versuche wurde aber fast ausschliesslich nur Begonia rex verwendet, die durch ein besonders gutes Regenerationsvermögen ausgezeichnet ist (27). Dadurch wird natürlich die Reaktion auf künstlich zugefügte Substanzen weitgehend überdeckt. Es lag deshalb nahe, einige andere Arten zu untersuchen, um eventuell weniger gut regenerierendes Material zu erhalten. Anhand dessen könnte dann die Wirkung zugefügter Präparate besser bewertet werden.

Material und Methode.

Zunächst wurden zur Ermittlung geeigneter Arten Vorversuche ausgeführt. Das hierzu benötigte Material stammte aus dem Botanischen Garten der Universität Erlangen. Jeweils 100 Blattstücke der Grösse 15 x 20 mm mit kräftigem Nerv in der Mitte wurden in mit Torfmull/Sand im Volumenverhältnis 2:1 beschickten Holzkistchen ausgelegt, die zur Erhöhung der relativen Luftfeuchtigkeit mit Glas abgedeckt wurden. Das Gemisch war nicht zu stark angefeuchtet, um Verluste durch Fäulnis so niedrig wie möglich zu halten. Die Versuche wurden im Gewächshaus bei normalem Tageslicht, halbhell und 25-30° C aufgestellt. Ebenso wurden von jeder Art je10 ganze Blätter mit dem Stiel in das Gemisch eingesteckt. Die Auswertung erfolgte nach 6 Wochen und brachte das in Tabelle I wiedergegebene Ergebnis. Aufgrund der Tatsache, dass bei B. x lucerna zwar in geringem Masse Wurzelbildung, jedoch keine Sprossbildung erfolgte, wurde in der Hauptsache diese Art für die Versuche herangezogen. Daneben kamen auch noch B. tuberosa, B. semperflorens -die sich aber als zu empfindlich erwiesen- und B. cathayana wegen ihrer starken Behaarung zur Verwendung. Eine Kultur (9) der genannten Arten nach dem Verfahren von Wirth (Sterilisation der Blätter mit Sublimatlösung und Aufzucht der Blattstücke auf Agar-Agar) (35) sowie (23) und (34) erwies sich nun wegen ihrer starken Quecksilberempfindlichkeit als unmöglich.

Auch gegen Eau de Javelle, Sagrotan und andere Desinfektionsmittel waren die Blätter so anfällig, dass von einer Kultur auf Agar-Agar-Nährboden, bei der die Blattstücke unbedingt steril sein müssen, Abstand genommen werden musste.
Die starke Reaktion der ausgewählten Arten auf Quecksilberverbindungen - auf B. x lucerna wirkte selbst eine Aufschwemmung von $Hg J_2$ toxisch - legte die Vermutung nahe, dass auch die anderen Arten Quecksilberverbindungen nicht ohne jede Schädigung vertrugen, wie dies Wirth für B. rex angab. Die einzelnen Arten des Vorversuches wurden deshalb auf ihr Verhalten gegenüber Sublimatlösung untersucht. Hierzu wurden je 25 Blattstücke der Grösse 15 x 20 mm von Blättern, die je 1/2 Stunde in Sublimatlösung von unterschiedlichen Konzentrationen eingebracht worden waren, auf dem später angegebenen Nährmedium ohne weitere Zusätze kultiviert. Die Auswertung nach 40 Tagen zeigte das in der Tabelle II wiedergegebene Bild. Die Zahlen in den senkrechten Spalten geben dabei die Anzahl der abgestorbenen Blattstücke an. Die Tabelle zeigt eindeutig die verschieden starke Reaktion der einzelnen Arten und die Unmöglichkeit, bei Kulturen, die mit Sublimat sterilisiert wurden, zu vergleichbaren Ergebnissen zu gelangen. Es musste deshalb versucht werden, die Nährlösung mit einem Medium zu verfestigen, das nicht schon selbst, wie es bei Agar-Agar der Fall ist, als Pilznährboden dienen konnte. Als sehr geeignet hierfür erwies sich eine Mischung aus grobem Quarzsand (Merck Nr. 7530) geglühtem Seesand (Riedel de Haen Nr. 18648) und reinem Kieselgur (Merck Nr. 8117) im Volumenverhältnis 1:1:1. Die Mischung wurde mit Nährlösung nach Heller gut durchfeuchtet und locker in genau abgemessenen Mengen in Petrischalen (6cm hoch, 10 - 12 cm Ø) gegeben. Um äussere Infektionen möglichst auszuschalten,erfolgte hierauf die Sterilisation der Kulturgefässe im Dampfautoklaven bei 120° C und 1 atü. Die Dauer betrug 10 Minuten. Unbedingt erforderlich ist die Sterilisation jedoch nicht, wenn vorher das trockene Gemisch auf mindestens 150° C erhitzt wurde. Die organischen Stoffe wurden, um Hitzezersetzung zu vermeiden, in sterilem Wasser aufgelöst dem Nährboden nach der Sterilisation in der jeweils benötigten Menge aufgesprüht. Mit einem sterilen Spatel wurde dann in der Impfkabine gut durchgemischt.

Die verwendeten Blätter wurden zunächst, zur Entfernung anhaftender Algen oder Pilzsporen, dreimal in sterilem Wasser gewaschen und anschliessend 15 Minuten mit einer 5%igen Orthocidaufschlämmung behandelt. Dieses Verfahren zeigte auf die Organbildung der Kulturen keinen Einfluss, drückte aber die Rate des Pilzbefalls z.B. bei B. rex von 30 % auf 1,5 % hinab. Bei der sehr empfindlichen B. semperflorens betrug die Ausfallrate bei behandelten Stücken immerhin noch 80 % bei unbehandelten dagegen nahezu 95 %. Aus diesen so vorbehandelten Blättern wurden die zur Kultur benötigten Stücke in einer Grösse von 15 x 20 mm in der Weise herausgeschnitten, dass alle einen in Längsrichtung verlaufenden etwa gleich starken Nerv enthielten (Wirth), da an den Nerven die Regeneration bevorzugt einsetzt. Diese Stücke wurden in konzentrischen Kreisen, jeweils 25 Stück pro Schale, leicht schräg etwa 2 mm tief in das Substrat gesteckt, sodass sie gerade nicht umfielen. Alle 14 Tage erfolgte Ergänzung des verdampften Wassers und der verbrauchten Nährlösung (10), (24) durch Zugabe von 5 ccm mit sterilem Wasser 1 : 5 verdünnter Heller'scher Nährlösung (15). Es stellte sich allerdings in der Folge heraus, dass auch ein Zusatz von sterilem Wasser alleine vollkommen genügt. Eine weitere Zugabe von organischen Substanzen erfolgte nicht mehr. Dieses Verfahren hat für Blattkulturen vor dem von Wirth angegebenen einige entscheidende Vorteile: Das Substrat selbst kann weder verpilzen noch als Bakteriennährboden dienen, es ist nicht so feucht wie ein Agarnährboden, es kann auch bei Versuchslaufzeiten von einem halben Jahr und länger wegen der ständigen Ergänzung nicht austrocknen, während bei Kulturen auf einem Agarnährboden durch nachträgliche Wasserzugabe meist Nekrose eintritt, und schliesslich können auf diese Weise sehr leicht auch stark behaarte Blätter (B. cathayana!) kultiviert werden. Das aber ist nach der Wirth'schen Methode völlig unmöglich, da solche Blätter infolge ihrer Behaarung von Sublimatlösung oder anderen Desinfektionsmitteln nur unvollkommen benetzt werden und deshalb niemals steril erhalten werden können.

Um Garantie für ein einheitliches Material zu besitzen, wurden alle Versuchspflanzen jeder Art durch vegetative Vermehrung (Stecklinge) aus jeweils einer einzigen Pflanze gewonnen und

unter gleichen Bedingungen im Gewächshaus gehalten. Die Laufzeit der Versuche betrug, wenn nicht anders angegeben, 6 Monate mit jeweiliger Zwischenauswertung alle 14 Tage. Zur Nährlösung wurden analysenreine Reagenzien der Firma Merck verwendet. An organischen Substanzen wurden benutzt: Kalium -α- naphtylacetat der Firma Schuchardt (kurz NES), β- Indolylessigsäure der Firma Merck Nr. 353 (kurz IES), 2, 4, Dichlorphenoxyessigsäure der Firma Schuchardt (kurz 2,4,D), Guaninhydrochlorid der Firma Schuchardt anstelle des sehr schwer löslichen reinen Guanins, sowie Adenin der Firma Merck Nr. 838. Bei der Ausführung der im Folgenden zu behandelnden Versuche ergab sich für das Verhalten von B. x lucerna eine starke Abhängigkeit von der Jahreszeit, in der die jeweiligen Kulturen angesetzt, andererseits aber auch von der Tageslänge, unter der sie gehalten wurden. Auf die Gründe hierfür soll später eingegangen werden. Als optimal stellten sich folgende Bedingungen heraus, unter denen alle Versuche, wenn nicht ausdrücklich anders angegeben, durchgeführt wurden.
Ansatzzeit: Februar und März, Kultur im 12-Stundentag, Kunstlicht durch Osram HNW-Röhren, Beleuchtungsstärke 2500 Lux, Temperatur 26 - 28° C. Erhöhung des Blauanteils des Lichtes (andere Röhren) oder des Rotanteils (durch Glühbirnen) hatte immer nachteilige Wirkung.

Ergebnisse.

A. Versuche an Blattstücken.

I. Einfluss von Quecksilberverbindungen auf die Regeneration von B. rex.

Es war nun eine interessante Frage zu untersuchen, ob sich mit Sublimat sterilisierte Kulturen von B. rex andersartig gegen Wuchsstoffe verhalten als unbehandelte. Zu diesem Zwecke wurde jeweils eine Versuchsreihe nach Wirth sterilisiert, eine andere mit Orthocid behandelt, und nach der oben angegebenen Methode auf Quarz-Seesand-Kieselgur mit verschiedenen Konzentrationen von NES und IES kultiviert. Die Versuche wurden im Gewächshaus hell, aber vor Sonne geschützt, bei 25 - 30° C aufgestellt. Die Auswertung ergab folgendes Bild:
Kontrollen. Bei Quecksilberbehandlung erschienen die ersten

Wurzeln wie bei Wirth nach 15 - 16 Tagen, die ersten Sprossanlagen nach etwa 20 Tagen. Ohne Quecksilberbehandlung zeigten sich die Wurzeln nur unwesentlich früher, nach 14 - 15 Tagen, die ersten Sprossanlagen jedoch ebenfalls nach dieserZeit und in wesentlich grösserer Zahl. Bei Zugabe von NES wirkten bei Hg-behandelten bereits 10 mg/l vollständig toxisch, während bei unbehandelten 50 mg/l von etwa 70 % der Blattstücke vertragen wurden. Auffällig ist hierbei das Auftreten eines Maximums für die Sprossbildung bei 0,05 mg/l NES, das bei Hg-behandelten fehlt. Die Abhängigkeit der Organanlagen jeStück von der NES Konzentration ist in den Kurven 1 und 2 wiedergegeben.

IES ergab grundsätzlich die gleichen Ergebnisse, nur dass hier die Verträglichkeitsgrenze bei 25 bzw. 90 mg/l lag. Das Verhalten der Blattstücke gegen IES ist in den Kurven 3 und 4 wiedergegeben.

Die Ergebnisse beweisen, dass die mit Quecksilber behandelten Stücke eine dem äusseren Anschein nach nicht sichtbare Schädigung der Epidermis davongetragen haben müssen, durch die namentlich die Sprossbildung stark gehemmt und die Neigung zu Nekrose erhöht wird. Die von Wirth nach dieser Methode erhaltenen Ergebnisse konnten deshalb nicht zu Vergleichszwecken mit den folgenden Versuchen herangezogen werden. Als bemerkenswert wäre noch hinzuzufügen, dass die Quecksilberschädigung durch Ascorbinsäure, die dem Nährboden zur Verhinderung der Photolyse der IES zugefügt wurde (Brauner 1953) (5), zum Teil wieder kompensiert werden kann. Die fördernde Wirkung dieses Vitamins hatte auch Wirth schon festgestellt, bei nicht Hg-behandelten Stücken war sie jedoch nicht zu beobachten. Offensichtlich bewirkt die Ascorbinsäure eine schnellere Behebung der durch das Desinfektionsmittel hervorgerufenen Schädigunggen. In ähnlicher Weise wie Quecksilber, nur nicht so extrem, wirkten alle anderen Desinfektionsmittel, wie Eau de Javelle, Lysol, Sagrotan und Seife. Nur ausgesprochene Pflanzenschutzmittel wie Orthocid, Dithane und ähnliche hatten keinerlei Einfluss auf die Reaktion der Blattstücke. Sie konnten ohne unerwünschte Nebenwirkungen auch in stärkeren Konzentrationen als den von den Herstellern angegebenen verwendet werden.

II. Versuche mit organbildenden Substanzen. (3),(8),(14),(16), (20),(25),(28),(30),(31).

1. Verhalten gegen NES.

Verwendet wurden Konzentrationen von 0,005 bis 30 mg/l Nährlösung.

Die Reaktion der B. rex hatte auch unter diesen Bedingungen praktisch völlig den in Kurve 1 (Tageslichtversuch) wiedergegebenen Verlauf: Die Sprossbildung hörte bei etwa 10 mg/l auf. Das Maximum der Wurzelbildung lag bei 1 mg/l. Hier wurden die meisten und grössten Wurzeln ausgebildet.Die Wurzelzahl blieb bis etwa 30 mg/l annähernd konstant, die Wurzeln selbst aber wurden zunehmend kleiner. (Abb.4) Nach einer Versuchsdauer von 50 Tagen waren bei 10 - 30 mg/l nahezu 80 % der angelegten Wurzeln wieder vertrocknet. Die Kallusbildung nahm von 5 - 30 mg/l sehr stark zu, ab 30 mg/l unterdrückte sie allmählich die Wurzelbildung völlig. Bei 50 mg/l waren nach 50 Tagen etwa 40 % der Blattstücke abgestorben. Ein ähnliches Bild zeigte auch die B. cathayana.

Völlig anders jedoch verhielt sich die B. x lucerna. Die Kontrollen waren auch nach 6 Monaten noch zu 70 % ohne jede Organanlage. Es zeigte sich nur am basalen Ende eine leichte Kallusbildung. Die restlichen 30 % zeigten nach 3 - 6 Monaten je eine kräftige Wurzel, die rasch weiterwuchs. Sprossbildung konnte auch bei einer Laufzeit von 18 Monaten bei Kontrollen nicht erzielt werden.

Die mit NES behandelten Kulturen zeigten nach 25 - 30 Tagen bei den Konzentrationen ab 0,1 mg/l Wurzelanlagen am basalen Nervenende, die ab 10 mg/l auf die gesamte, mit dem Nährboden in Berührung stehende,Spreitenfläche übergriffen. Das Maximum der Wurzelbildung lag bei 5 mg/l. Von den Wurzelanlagen wuchsen maximal 4 aus. Die Verdickung des Nervenendes bzw. der gesamten Spreite nahm mit steigender Konzentration ständig zu. Bei 1-10 mg/l wurde oft beobachtet, dass die Wurzeln auf einem Auswuchs angelegt wurden, der die Verlängerung des Blattnervs darstellte. Bei den niedrigeren Konzentrationen setzte die Reaktion nach 30 - 40 Tagen ein. Die Wurzeln wurden bei 0,005 bis 10 mg/l kräftig ausgebildet und durchzogen nach etwa 2 Monaten stark verästelt den gesamten Nährboden. Mit steigender Konzentration waren sie kür-

zer und weniger verzweigt.

Nach 4 Monaten wurden bei einigen Blattstücken die erstenSprossanlagen in Gestalt kleiner grüner Höcker auf den Nerven an der Blattoberseite sichtbar. Auch sie gingen bei höheren Konzentrationen (vereinzelt ab 5, sonst ab 10 mg/l) auf die gesamte Spreite über, jedoch wurden pro Segment selten mehr als 5 Anlagen gebildet. Nach 6 Monaten hatten ca. 70 % aller Blattstücke der Konzentration 0,005 - 10 mg/l kräftige Sprosse ausgebildet.Ab 5mg/l nahm die Zahl der Sprossanlagen stark ab. Bei 20 und 30 mg/l traten sie nur noch ganz vereinzelt auf, durchschnittlich 1 Spross auf 25 Blattstücke. Das Maximum der Sprossbildung lag bei 1 mg/l. Charakteristisch war hier wie bei allen weiteren Versuchen, dass immer nur eine Sprossanlage zum Austreiben gelangte. Die Ergebnisse für die B. x lucerna sind in den Kurven 5 und 6 graphisch dargestellt.Aufgetragen sind in Kurve 5 die Zahl der Organanlagen in Kurve 6 die Zahl der ausgebildeten Organe in Abhängigkeit von der NES Konzentration. (Abb. 1-3, 5, 6)

B. semperflorens zeigte ein ähnliches Verhalten wie B. x lucerna. Das Maximum der Wurzelbildung lag bei einem mg/l; allerdings wurden hier, wohl wegen des fehlenden kräftigen Nervs, nur maximal 6 Anlagen gebildet; das Sprossmaximum lag bei 0,05 mg/l mit 2 Anlagen. Die Art zeigte die gleiche starke Verzögerung bei der Anlage der Sprosse. Nach 20 Tagen erschienen die ersten Wurzeln und erst nach weiteren 45 Tagen die Sprossanlagen. B. tuberosa produzierte unter den angegebenen Bedingungen nur Kallus, nach 60 Tagen waren alle Stücke abgestorben.

2. Verhalten gegen IES.

Sie zeigte im wesentlichen wie bei SKOOG und TSUI (1951) (30) und Wirth (1959) (35) bei allen Objekten die gleiche Wirkung wie NES, nur waren die Neubildungskurven etwas nach rechts verschoben. Das Verhalten der B. x lucerna ist in Kurve 7 wiedergegeben, B. rex reagierte wie in Kurve 3. Bei B. tuberosa entstanden bei Konzentrationen von 0,5 - 10 mg/l vereinzelt Wurzeln, jedoch waren auch hier wieder alle Stücke nach 50 Tagen abgestorben.

Die geringere Wirksamkeit der IES beruht wahrscheinlich auf einer vorzeitigen Zersetzung im Nährboden. Auch durch Zugabe von Ascorbinsäure konnte keine Verstärkung der Reaktion er-

zielt werden.

3. Verhalten gegen 2,4 D.

Sie ist bereits in geringen Konzentrationen im Stoffwechsel der Dikotylen ein starkes Gift. Erwartungsgemäss wurde sie auch von B. x lucerna bereits in Konzentrationen von 0,5 mg/l nicht mehr vertragen. Die Stücke starben nach starker Kallusbildung auf der gesamten eingetauchten Blattspreite, starker Anschwellung des Nervs und Rotfärbung des gesamten Stücks durch Anthozyan bereits nach 30 - 40 Tagen ab. Das Absterben erfolgte von der Eintauchstelle her. Auch in geringeren Konzentrationen von 0,005-0,1 mg/l rief die 2,4 D keine Organbildung sondern nur Kalluswucherungen hervor. Bei noch geringeren Konzentrationen verhielten sich die Kulturen wie die Kontrollen. Die Struktur des Kallus war die gleiche wie bei Wirth beschrieben, nur fehlten die von ihm als Organanlagen gedeuteten Höcker.

Die B. rex reagierte auf 2,4 D ebenfalls negativ: mit steigenden Konzentrationen nahm die Anzahl der gebildeten Organe gegenüber den Kontrollen ab. Ab 0,5 mg/l traten nur noch unregelmässige Kalluswucherungen auf. Vereinzelt fanden sich bei diesen Konzentrationen mit Leitbündelelementen (16), (19), durchzogene Höcker, die möglicherweise als degenerierte Wurzelanlagen zu deuten sind. (Wirth 1959). (35)

Auf B. semperflorens und B. tuberosa wirkte 2,4 D bereits ab 0,05 mg/l vollständig, ab 0,005 mg/l teilweise toxisch. In geringeren Konzentrationen war sie wirkungslos.

4. Purine.

a. Guanin.

Die Zugabe erfolgte als Guaninhydrochlorid der Firma Dr. Th. Schuchardt. Angewandt wurden Konzentrationen von 10 - 80 mg/l. Die Kulturen verhielten sich zunächst genau wie die Kontrollen, legten dann allerdings die Wurzeln schneller als diese nach etwa 40 Tagen an.

Ihre Zahl war bei 10 - 40 mg/l gegenüber den Kontrollen leicht erhöht und wurde bei 50 - 80 mg/l zunehmend geringer. Gleichzeitig nahm mit steigender Konzentration die Bildung eines stark grün gefärbten Kallus zu. Nach weiteren 30 - 40 Tagen wurden ab 20 mg/l vereinzelt Sprossanlagen sichtbar. Nach

insgesamt etwa 3 Monaten Versuchszeit hatte die Hälfte der Blattstücke bei den Konzentrationen ab 20 mg/l unabhängig von weiteren Konzentrationssteigerungen kräftige Sprosse entwickelt.

B. rex zeigte ein ähnliches Verhalten. Zwar erschienen hier Sprosse und Wurzeln wieder gleichzeitig, doch zeigte sich bei 10 - 30 mg/l leichte Wurzelförderung, bei 40 - 80 mg/l immer stärkere Wurzelhemmung und ab 20 mg/l eine von weiterer Konzentrationssteigerung unabhängige Erhöhung der Zahl der Sprossanlagen um fast 50 %.

b. Adenin

Die Kulturen reagierten auf Adeningabe in ähnlicher Weise wie auf Guanin. Zur Verwendung gelangten wiederum Konzentrationen von 10 - 80 mg/l.

Bei B. x lucerna setzte die Reaktion erst wieder nach 40 Tagen ein. Die Zahl der Wurzeln nahm bis 30 mg/l gegenüber den Kontrollen leicht zu und sank mit zunehmender Konzentration wieder ab. Nach weiteren 30 - 40 Tagen legten die behandelten Kulturen, zahlenmässig wiederum konzentrationsunabhängig, Sprosse an, und zwar bei 70 % der Blattstücke. Starke Abhängigkeit von der Adeninkonzentration zeigte sich nur in ihrer Grösse und ihrer Wachstumsgeschwindigkeit, die bei 40 mg/l optimal war. Auch hier war wieder das zunehmende Auftreten von ergrüntem Kallus mit steigender Konzentration zu beobachten. Die B. rex zeigte eine etwas abweichende Reaktion. Die Wurzelbildung wurde gegenüber den Kontrollen sofort gehemmt und hörte schliesslich bei 70 mg/l gänzlich auf. Die Anlage der Sprosse dagegen wurde wiederum fast gleichmässig gefördert, jedoch deutete sich bei 40 mg/l ein schwaches Maximum an. Eine wesentlich stärkere Konzentrationsabhängigkeit zeigte sich auch bei diesem Objekt nur in Grösse und Wachstum der Sprosse. Das Optimum lag bei 40 mg/l. Ein Absterben der Blattstücke trat nicht ein. Die gleiche Wirkung hatte Adenosin.

5. Kombination Purine/Wuchsstoff.

Bei den Kombinationsversuchen kam als Wuchsstoff wegen der besseren Löslichkeit und der geringeren photolytischen Zersetzung NES zur Anwendung. Untersucht wurden folgende Kombi-

nationen:
Adenin 10 - 80 mg/l + NES 0,1; 0,5; 1; 5; 10 mg/l
Guanin 10 - 80 mg/l + NES 0,1; 0,5; 1; 5; 10 mg/l
Als Objekt diente nur B.x lucerna. Die Kombinationsversuche zeigten ein zunächst überraschendes Ergebnis. Nach 25 - 30 Tagen wurden die ersten Wurzeln angelegt, den bereits etwa 5 Tage später, in Form kleiner grüner Höcker auf dem Nerv an der Blattoberseite, die Sprossanlagen folgten. Wie schon bei den Purinen allein war die Anzahl weitgehend unabhängig von deren Konzentration, aber stark abhängig von der NES Konzentration, wobei die Anzahl durchschnittlich wesentlich höher lag, als bei NES allein. Adenin und Guanin zeigten untereinander in Kombinationen mit der NES kaum Unterschiede in der Wirkung, eine Kombination Adenin + Guanin + NES zeigte keinen Einfluss auf Zahl und Ausbildung der Organanlagen. Die Sprossanlagen begannen nach etwa 14 Tagen auszuwachsen, oftmals bis zu 3 pro Blattstück. Das Wurzelwachstum wurde von Adenin ab 30 mg/l nur bei NES Konzentrationen von 0,5-1 mg/l merklich gehemmt, von Guanin praktisch überhaupt nicht. Nach einer Versuchslaufzeit von nur 60 Tagen trugen fast alle Blattstücke die ersten Blätter und kräftig entwickelte Wurzeln. Bei höheren Puringaben nahmen wieder die Grösse und die Wachstumsgeschwindigkeit der Sprosse ab. Das absolute Optimum der Kombination lag bei 40 mg/l Adenin oder Guanin und 5 mg/l NES. Die folgenden Kurven stellen die Abhängigkeit der Organbildung von NES Konzentration bei 40 mg/l Adenin bzw. Guanin dar und von der Adenin bzw. Guanin Konzentration bei 5 mg/l und 0,5 mg/l NES. (Kurven 8 - 13)

6. Einwirkung der Kombination Adenin-Guanin/NES auf invers bzw. seitlich eingesteckte Blattstücke.(Abb. 7,8)

Bei den invers bzw. seitlich eingesteckten Blattstücken der B. x lucerna ergab sich das Problem der Ernährung der Stücke. Während in einer feuchten Kammer aufbewahrte Stücke von B.rex nicht nur über 40 Tage am Leben blieben, sondern auch noch Organe bildeten, starben die Stücke der B. x lucerna langsam von den Seiten her ab und waren nach etwa 30 - 40 Tagen vertrocknet. Dieses Bild zeigten auch die invers eingesteckten Blattstücke

trotz 98 % relativer Luftfeuchtigkeit im Kulturgefäss. Offensichtlich sind die Blattstücke der B. x lucerna nicht in der Lage, die nötige Feuchtigkeit aus der Luft aufzunehmen bzw. in den Nerven der normalen Richtung entgegengesetzt zu leiten. Dem Hauptnerv bei allen invers oder seitlich eingesteckten Blattstücken musste deshalb ein mit sterilem Wasser befeuchtetes steriles Wattebäuschchen aufgesetzt werden. Dieses wurde, da die Watte nach etwa 4 Tagen zu verpilzen beginnt, alle 3 Tage erneuert. Zwar stieg bei dieser Methode der Ausfall durch Verpilzung auf nahezu 50 % an, die unbefallenen Kulturen konnten jedoch auf diese Weise am Leben erhalten werden.

Untersucht wurden die gleichen Kombinationsreihen wie bei den normal eingesteckten Blättern. Die Ergebnisse:

NES 0,1 - 0,5 mg/l + Adenin bzw. Guanin 10 - 80 mg/l.

Am apikalen Ende trat nach 20 Tagen Kallusbildung auf, die mit zunehmender Purinkonzentration stärker und grüner wurde. Am Basalende fand sich leichte Kallusbildung wie bei denKontrollen. Nach 50 - 60 Tagen zeigten fast alle Kulturen am Basalende Wurzelbildung, in Menge und Grösse ungefähr den normal eingesteckten Kontrollen entsprechend, nur dass sie hier bei ca. 90 % der Blattstücke auftrat . Die invers eingesteckten Kontrollen zeigten nach etwa 3 Monaten vereinzelt Wurzelbildung am basalen Ende. Sprossbildung wurde bei den Kontrollen keine, bei den übrigen Versuchen sehr vereinzelt und unabhängig von der Purinkonzentration beobachtet.

NES ab 1 mg/l + Adenin bzw. Guanin 10 - 80 mg/l.

Nach starkem Anschwellen an der Berührungsfläche mit dem Nährboden zeigten sich bei 1 mg/l NES nach 40, bei höheren Konzentrationen nach 30 Tagen am apikalen Ende Organanlagen und zwar Sprosse und Wurzeln fast gleichzeitig. Die Organbildung erfolgte bevorzugt an den äussersten Stellen, also möglichst weit vom Nerv entfernt. Optimalkonzentrationen waren wieder 5 mg/l NES + 40 mg/l Adenin bzw. Guanin. Von den Wurzelanlagen wuchsen maximal 5, von den Sprossanlagen maximal 4 aus. Wiederum zeigte sich in der Zahl der Anlagen keine Abhängigkeit von der Purinkonzentration; allerdings wuchsen bei 80 mg/l Adenin die Wurzelanlagen nicht mehr aus, Gua-

nin wirkte wieder etwas schwächer und hemmte nur das Auswachsen in stärkerem Masse. Eine Neubildung am basalen Ende erfolgte wiederum wie bei den niedrigeren NES Konzentrationen nach 50-60 Tagen. Auch hier zeigte sich Sprossbildung nur sehr vereinzelt nach 3 Monaten.

Die seitlich eingesteckten Kulturen ergaben grundsätzlich das gleiche Bild, nur dass hier selbstverständlich die Neubildungen nicht am Apikalende, sondern an der im Substrat steckenden Seitenkante, unter genau denselben Erscheinungen erfolgte. Um gegenüber den anderen Versuchen keine grössere Eintauchfläche zu haben, wurden die Stücke 1,5 x 1,5 cm quadratisch geschnitten.

Mit NES bezw. IES alleine waren am apikalen Ende nur vereinzelt bei Konzentrationen über 5 mg/l Wurzelbildungen zu beobachten, sie waren jedoch wesentlich geringer in der Zahl und kleiner als die in Kombination mit Purine erhaltenen. Sprossbildung trat auch bei Laufzeiten von 6 Monaten weder am basalen noch am apikalen Ende auf. Kurven 14 und 15.

Ein abweichendes Verhalten zeigte bei diesen Versuchen die B. cathayana. Adeningaben ab 30 mg/l wirkten rasch toxisch, bei inversem Einstecken zeigten sich Neubildungen nur am basalen Ende. Sie waren durch NES Konzentrationssteigerungen in geringem Masse beeinflussbar.

B. semperflorens und B. tuberosa konnten invers eingesteckt nicht kultiviert werden, die Ausfallrate betrug 100%.

7. Einfluss des Lichtes und der Jahreszeit.

Die angeführten Versuche mit B. x lucerna wurden auch bei natürlicher Tageslänge und normalem Tageslicht ausgeführt. Dabei ergab sich, dass bei Zugabe von NES alleine nur bei gleichbleibender oder ansteigender Tageslänge, am besten jedoch bei durchschnittlich 12 Stunden Licht, Sprossbildung erfolgte, aber auch nur dann, wenn die Versuchspflanzen mindestens einen Monat vorher bei ansteigender oder gleicher Tageslänge gehalten worden waren. Bei Kulturen, die zwischen April und September, sowie Dezember und Januar angesetzt wurden, zeigte sich zudem eine deutliche Hemmung der Wurzelbildung. Um einen Vergleichsmasstab zu haben, wurden deshalb, wie schon am Anfang erwähnt, die gesamten bisher angeführten Versuche in den Monaten Febru-

ar und März angesetzt. Unabhängig in ihrer Reaktionsweise von Lichtverhältnissen und Jahreszeit wurden die Kulturen aber sofort, wenn man ihnen den Wuchsstoff in Kombination mit Purinen bot. Hierbei zeigte sich nur eine geringfügige Reduktion der Zahl der gesamten Anlagen in den Monaten Mai bis August und Dezember bis Januar. Dies ist wohl auf den anderen physiologischen Zustand der im Gewächshaus unter natürlichen Bedingungen gehaltenen Versuchspflanzen sowie auf die Schwankungen der Tageslänge während der Versuche zurückzuführen. Leider konnten aus technischen Gründen keine Pflanzen ständig im 12 Stundentag gehalten werden. Es lässt sich deshalb nicht sagen, ob mit diesen Pflanzen angesetzte Kulturen sich nicht das ganze Jahr über gleichartig verhalten hätten. Die Abhängigkeit der Anzahl der gesamten Organanlagen von der Jahreszeit zeigt für die Konzentration NES 5 mg/l + Adenin 40 mg/l sowie für NES alleine 1 mg/l und 0,5 mg/l Kurve 16. Der Monat gibt das Datum des Ansatzes der Kultur an. Die Versuche wurden über zwei Jahre mit NES oder IES alleine und über ein Jahr mit NES/Adenin bei natürlichem Tageslicht im Warmhaus hell, jedoch vor Sonne geschützt, und 25 - 30°C durchgeführt. Während die Kurven für NES alleine starke Maxima und Minima aufweisen, zeigt die Kurve für die Kombination einen ziemlich flachen Verlauf.

III. Versuche mit Stengelstücken von B. x lucerna.

Verwendet wurden 2,5 cm lange Stücke mit einem Alter von ca. 6 Monaten. Die Versuchspflanzen wurden zur Erzielung längerer Internodienstücke möglichst dunkel gehalten und zwar im Warmhaus unter den Tabletten. Die Stengelstücke wurden in vier verschiedenen Variationen gewonnen, wie die Abbildungen 11 a-d zeigen. Sie werden im Weiteren kurz mit I bis IV bezeichnet. Die Kultur erfolgte in gleicher Weise wie die der Blattstücke.

1. Einwirkung von NES (0,005 bis 20 mg/l).

a. Stücke der Form I. (Oberstücke)

Normaleingesteckt.

Ab 0,005 bis 10 mg/l erfolgte am basalen Ende immer stärker werdende Kallusbildung. Die Wurzeln erschienen basal nach ca. 20-25 Tagen, nach etwa 30 Tagen auch am apikalen Ende. Das Optimum der Wurzelbildung lag bei 5 mg/l. Bei 15 - 20 mg/l entwickelte sich am basalen Ende nur noch Kallus, dagegen trat

am apikalen Ende eine starke Wurzelbildung auf.
Sprosse wurden zwischen 0,1 und 5 mg/l nach etwa 4 Monaten am apikalen Ende bei nahezu 50% der Kulturen gebildet.
Die Kontrollen zeigten nur vereinzelt Wurzelbildung am apikalen Ende, jedoch keine Sprossbildung.
Invers eingesteckt.
Bei allen Kulturen erfolgte eine mit steigender Konzentration zunehmende Kallusbildung an beiden Enden. Nach 20 - 25 Tagen erfolgte am apikalen eingetauchten Ende Wurzelbildung, die jedoch bei 20 mg/l vom Kallus völlig unterdrückt wurde. Nach 4 Monaten zeigten die Konzentrationen von 0,05 bis 5 mg/l Sprossbildung ebenfalls am apikalen Ende. Am basalen Ende waren, im Gegensatz zu den normal eingesteckten Stücken, keine Neubildungen zu beobachten. Während der Versuchszeit starb das Stück, auch bei Wasserversorgung durch Wattebäusche, langsam vom basalen Ende her ab. Bei Kontrollen erfolgten keinerlei Neubildungen.
b. Stücke der Form II.
Normaleingesteckt.
Bei etwa 2/3 der Stücke entstanden nach etwa 30 Tagen verstreut über das ganze Stück verteilt Wurzelbildungen. Kallus wurde sowohl am apikalen wie am basalen Ende gebildet. Die Kontrollen zeigten diese Wurzelbildung nicht. Sprossbildung erfolgte keine.
Invers eingesteckt.
Auch in mehreren Versuchsreihen waren nach Ablauf von 6 Monaten alle Stücke ohne jede Organbildung abgestorben. Bei niedrigeren Konzentrationen traten am apikalen, bei Konzentrationen über 5 mg/l auch am basalen Ende Kalluswucherungen auf.
Stücke der Form III. (Unterstücke)
Normaleingesteckt.
Bei allen Kulturen traten nach 20 bis 25 Tagen, nach mit steigender NES-Konzentration zunehmender Kallusbildung, nur am basalen Ende Wurzelanlagen auf, deren Zahl bei 5 mg/l optimal war. Im Gegensatz zu Form I und II traten am Apikalende nie Wurzeln auf. Bei höheren Konzentrationen wurden die auswachsenden Wurzeln kleiner und die Anlagen weniger häufig. Nach 3 Monaten hatte sich auch am apikalen Ende ein kräftiger Kal-

lus gebildet, aus dem nach 4 Monaten bei etwa 70 % der Stücke die Sprossanlagen erschienen. Nur bei 20 mg/l fiel die Sprossbildung aus, wohl weil bei diesen Stücken keine voll funktionsfähigen Wurzeln mehr gebildet wurden. Wie schon bei den Blättern beobachtet, wuchs auch hier nur eine Sprossanlage aus. Im Gegensatz zu Form I trat apikal keine Wurzelbildung ein.

Invers eingesteckt.

Bei allen Kulturen erfolgte ab 0,1 mg/l nach 20 - 25 Tagen am nicht eingetauchten Basalende eine schwache Wurzelbildung.Die Kulturen starben verhältnismässig rasch vom eingetauchten Apikalende her ab. Sprosse wurden keine angelegt.

Stücke der Form IV.

Normal und invers eingesteckt verhielten sie sich wie die Form I Das kleine Stück des anderen Internodiums (wie Abb. 11 d)starb jeweils rasch ab.

2. Pfropfungen.

Bei sonst gleicher Versuchsanordnung wie bei 1 a - d wurden auf die einzelnen Stücke jeweils am nicht eingetauchten Ende Augen aufgepfropft und mit Kaktusstacheln fixiert. Die gleiche Wirkung zeigten auf die Stücke aufgelegte Knotenstücke, die ein Auge enthielten. Einheitlich bei allen Kulturen, ganz gleich welcher Form die Pfropfgrundlage war, ergaben sich folgende Ergebnisse.

Normal eingesteckt.

Bei 0,005 bis 5 mg/l NES trat nach etwa 20 Tagen gute Wurzelbildung auf, jedoch nur am basalen Ende, die bei 5 mg/l optimal war. Ab 10 mg/l trat eine zunehmende Kallusbildung auf, die bei 20 mg/l wiederum die Wurzelbildung fast unterdrückte. Nach 2 Monaten trieben entweder die eingewachsenen Augen aus oder, falls diese zugrundegegangen waren, entstanden aus grünen Kallusbildungen am apikalen Ende Sprossanlagen, von denen jedoch wiederum nur eine auswuchs.

Invers eingesteckt.

Nach etwa 30 Tagen trat bei allen Konzentrationen, optimal bei 10 mg/l, Wurzelbildungam apikalen Ende auf, begleitet von einer mit steigender NES-Konzentration zunehmenden Kallusbildung. Dabei erfolgte langsames Absterben der Stücke vom basalen Ende her. Sprossbildung wurde nicht beobachtet.

Diskussion der Ergebnisse.

Schon Wirth (1959) konnte in seiner Arbeit klar herausstellen, dass Wuchsstoffe und Purine einen entscheidenden Einfluss auf die Organneubildung bei B. rex haben. Die ausserordentliche Regenerationsfreudigkeit dieses Objekts liess jedoch nicht entscheiden, ob diese Stoffe allein die Neubildung bewirken. Während er nur vermuten konnte, dass eventuell die Wuchsstoffe mit den Purinen zusammen die Organbildung beeinflussen, stellen die vorher besprochenen Versuche einen ziemlich eindeutigen Beweis für diese Ansicht dar. Gerade die B. x lucerna gab wegen ihrer ausgesprochenen Reaktionsträgheit ein gutes Versuchsobjekt ab. (28)

Während die Wurzelbildung bei alleiniger Anwendung von NES nach 25 - 40 Tagen, die Sprossanlage nach 4 Monaten erfolgte, bei alleiniger Anwendung von Purinen, die Wurzeln nach 40 Tagen, die Sprosse nach 2 1/2 Monaten erschienen, ergaben sich in den Kombinationsversuchen Reaktionszeiten von 25 = 30 Tagen für Wurzeln und 30 - 35 Tagen für Sprosse. Zieht man ferner das Verhalten gegen Jahresrnytmus und Licht in Betracht, kommt man zu folgender Erklärung.

Die Blätter der B. x lucerna enthalten weniger organbildende Substanzen, als die der B. rex. (12) (28) (31) Chromatographische Untersuchungen der freien IES in den Blättern, die wohl als natürlicher Wuchsstoff hauptsächlich in Frage kommt, ergaben ein Verhältnis B. x lucerna zu B. rex = 3 : 5.(22) Dieses Verhältnis wurde sowohl kolorimetrisch als auch im Avena-Test ermittelt. Ein weiterer Beweis scheint auch die relativ gute Verträglichkeit für Wuchsstoffe und Purine bei der sonst wesentlich empfindlicheren B. x lucerna zu sein.

Aus den Versuchen geht hervor, dass beide Stoffgruppen -Wuchsstoffe und Purine- nur in Kombination miteinander ihre grösste Wirksamkeit entfalten. (14) (18)(20) Dabei scheinen nur verhältnismässig geringe Purinmengen für die Wirksamkeit zu genügen, da bei Konzentrationssteigerung kaum mehr Anderungen eintreten.

In der Pflanze selbst scheinen Stoffe von der Art der NES und der Purine gebildet zu werden und zwar anscheinend bevorzugt im Frühjahr (29). Für die IES konnte dies auch anhand chromato-

graphischer Untersuchungen bestätigt werden. Die Menge dieser Organbildner scheint dann später so stark abzusinken, dass ihre Konzentration zu einer vollständigen Neubildung nicht mehr ausreichend ist. (32) Auch bei Herbstkulturen ist aber bei Zusatz der Kombination eine vollständige Organneubildung zu erzielen. Die Bildung scheint jedoch erst bei ordnungsgemässer Ernährung des Stückes erfolgen zu können, da Sprossanlagen erst erscheinen, wenn das Stück eingewurzelt ist.
Besonders bemerkenswert ist die Tatsache, dass bei Zusatz nur eines Stoffes, und zwar gleichgültig ob Purin oder Wuchsstoff, Wurzeln gebildet werden, die Sprossbildung aber offensichtlich erst erfolgt, wenn sich an der Basis auch eine genügende Konzentration des anderen Stoffes angereichert hat. Die schnellste Bildung scheint bei verhältnismässig hohem Blauanteil des Lichtes und im 12 Stundentag zu erfolgen. Die Leitung der Stoffe erfolgt streng basipetal, weshalb die Regeneration bei normal eingesteckten Kulturen am Mittelnerv beginnt. Wird jedoch an anderen Blattstellen eine geeignete Konzentration angeboten, erfolgt die Neubildung auch dort. Dies ist der Fall bei den höheren Konzentrationen der normal eingesteckten Kulturen, wo die Anlagen auf dem gesamten eingetauchten Spreitenabschnitt auftreten. Bei invers oder seitlich eingesteckten Stücken erscheinen die Organe sinngemäss an der mit dem Nährboden in Berührung stehenden Spreitenstelle, also seitlich bezw. am apikalen Ende.
Leider liess sich eine Blockierung oder teilweise Zerstörung der Siebröhren durch Eosin, TIBA (21) und ähnliche Agentien nicht durchführen, da sie auf B. x lucerna schon in geringen Konzentrationen absolut toxisch wirkten.
Die gesamten Versuche deuten darauf hin, dass keinesfalls nur die allgemein als Wuchsstoffe aufgefassten Substanzen,wie NES oder IES,allein für die Neubildung verantwortlich sind, sondern dass bei Organbildungsvorgängen Wechselbeziehungen verschiedener Stoffe auftreten, wobei die Organneubildung offensichtlich vom Verhältnis dieser Stoffe zueinander gesteuert wird. Eine solche Beziehung kann künstlich durch gemeinsame Gaben von NES und Purin hergestellt werden. Wie eine solche Kombination jedoch tatsächlich auch natürlich aussieht, ist noch zweifel-

haft. (28)
Die ganz offensichtlich akropetale Leitung dieser Stoffe im Stengel braucht zu der Theorie der basipetalen Leitung im Blatt durchaus nicht im Widerspruch zu stehen, da ja der Vegetationspunkt mit solchen Stoffen versorgt werden muss. (Jacobs 1954) (17) Es liegen also im Stengel etwas andere Verhältnisse vor. Die Anlage der Sprosse nur am apikalen Ende ist jedoch ein recht guter Beweis für diese Ansicht. Besonders geeignet für Neubildungen scheinen bei Stengelstükken die noch nicht verholzten, weichen Stellen in der Nähe der Knotenregion zu sein. Ein Beweis hierfür ist, dass bei invers eingesteckten Stücken der Form I Wurzelbildung nur am weichen, apikalen Ende eintritt, bei der Form III dagegen am basalen (weichen) Ende. Unklar ist die Wirksamkeit der Augen, die auf die Stengelstücke aufgepfropft wurden, und die eine polarisierende Wirkung auf die Pfropfgrundlagen ausübten. In allen Fällen erschienen hier die Wurzeln nur am eingetauchten Ende, während Sprossbildungen bei invers eingesteckten Stücken nicht erfolgten, bei normal eingesteckten wiederum nur am apikalen Ende. (2)
Während also offensichtlich für die Neubildung an den Blattstücken dortselbst gebildete basipetal geleitete Substanzen in einer Wechselbeziehung untereinander verantwortlich sind, lässt sich nach den vorausgehenden Versuchen für die Stengelstücke eine akropetale Leitung dieser Stoffe mit Sicherheit feststellen.

Literatur:

(1) Allen, C. Regeneration, development and genotype. Amer. Naturalist 76, 225-238 (1942)

(2) Bloch R. Polarity inplants.Bot. Review 9, 261-310 (1943)

(3) Bouillenne,R. Nature chimique des substances de croissance et rhizogenèse.3ème Congr.Internat. Phytopharmacie (Paris), 1952, vol.2 699-704

(4) Hormones végétables,organogenèse et sexualité.Bull. Acad. roy. Belg. (Cl. Sci.) 1352 - 1366 (1955)

(5) Brauner,L. Über den Mechanismus der Photolyse des Heteroauxins. Naturwiss. 40, 23 (1953)

(6) Brückner,E. Über Stecklingsversuche an Zebrina pendula Schn. und Zebrina purpusii Bruck. Beitr. Biol.Pflanz. 22, 103 - 138 (1934)

(7) Mac Callum,W.B. Regeneration in Plants, Part I and II. Bot.Gaz. 40, 97-120 und 241-265 (1905)

(8) Garter,Ch.J. Morphogenetic effects of synthetic auxins. Handb. d. Pflanzenphys. XIV 1804 - 1105, Berlin (1961)

(9) Gautheret,R.J. Manual technique de culture des tissues végétaux.Paris, Masson et Cie. (1959)

(10) The nutrition of plant-tissue cultures. Ann.Rév.Plant.Physiol. 6, 433-483 (1955)

(11) Goebel,K. Weitere Studien über Regeneration.Flora 92, 132-146 (1903)

(12) Gregory,F.G. and Hancock,Ch. The rate of transport of natural auxin in woody shoots.Ann.Bot.NS.19, 451-465(1955)

(13) Hartsema,A. Anatomische Untersuchungen über das Auftreten von Neubildungen an Blättern von Begonia rex.Rec. Trav. bot. néerl. 23, 305 - 361 (1926)

(14) Housley,S. Kinetics of auxin-induced growth.Handb. d. Pflanzenphys. XIV 1007-1040 (1961)

(15) Heller,R. Récherches sur la nutrition minérale des tissues végétaux cultivés in vitro. Ann. Sci. natur., Bot.Sér. XI 141-223 (1953)

(16) Jacobs W.P. The role of auxin in differentiation of xylem around a wound. Amer. J. Bot. 39, 301-309 (1952)

(17) Acropetal auxin-transport and xylem regeneration- a quantitativ study.Amer.Naturalist 88, 327-337 (1954)

(18) Internal factors controlling cell-differentiation in the flowering plants. Amer. Naturalist 90, 163-169 (1956)

(19) Jost,L. Zur Physiologie der Gefässbildung. Z.Bot.35, 114-150 (1940)

(20) Libbert,E. Regulation des Wurzelwachstums durch synthetische und endogene Inhibitoren. Planta 50, 25-40 (1956)

(21) Einfluss der Trijodbenzoesäure auf die Wirkstoffleitung im Pflanzenstengel. Naturw. 45, 20 (1958)

(22) Linskens,E. Papierchromatographie in der Botanik. Berlin 1955

(23) Mayer,L. Wachstum und Organbildung an in vitro kultivierten Segmenten von Pelargonium zonale und cyclamen persicum. Planta 47, 401-446 (1956)

(24) Nemeč,B. Ernährung, Organogenese und Regeneration. Mem.Soc.roy.Sci.Bohéme (Cl.Sci.) 1934,No.7

(25) Pohl,R. Physiologie der Auxinwirkung. Handb. d. Pflanzenphys. XIV 703-752 (1961)

(26) Prévôt,P.C. Influence de l'hétéroauxine sur la réformation des bourgeons chez Begonia rex. Bull.Soc.roy. Sci. Liège 7, 284-288 (1938)

(27) Regel,F. Die Vermehrung der Begoniaceen aus ihren Blättern. Jena,Z.Naturw.10,447-492 (1876)

(28) Reinert,J.H. Schraudolf u. M.Tazawa Extrazelluläre Enzyme und Auxinbedarf von Gewebekulturen. Naturwiss. 44, 588 (1957)

(29) Ruge,U. Zur Wirkstoffanalyse des Rhizokallinkomplexes.I.Z. Bot. 45, 273-296 (1957)

(30) Skoog,F. and C.Tsui Growth substances and the formation of buds in plant-tissues. In: Plant Growth Substances p.p. 263-285,Madison, Univ. Wisconsin Press 1951

(31) Söding,H. Die Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952

(32) Vorkommen und Verteilung der Wuchsstoffe in der Pflanze. Handb. der Pflanzenphys. XIV 583-606 (1961)

(33) Meristeme und Gewebekulturen. Ebenda, p.p. 812-826

(34) Stichel,E. Gleichzeitige Induktion von Sprossen und Wurzeln an in vitro kultivierten Gewebestücken von Cyclamen persicum. Planta 53, 293-317 (1959)

(35) Wirth,K. Organbildung an in vitro kultivierten Blattstücken von Begonia rex. Planta 54, 265-293 (1959/60)

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Haustein danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für die ständige Förderung und Beratung bei der Anfertigung, Herrn Professor Dr. J. Schwemmle und Herrn Professor Dr. W. Haupt für die Überlassung eines Arbeitsplatzes am Botanischen Institut. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Anhang.

Tabellen, Abbildungen und Kurven.

Tabelle I. Ergebnisse des Vorversuchs.

Tabelle II. Ergebnisse des Versuchs für Quecksilberempfindlichkeit.
Die Zahlen in den senkrechten Spalten geben dabei die Anzahl der abgestorbenen Blattstücke an.

Abb. 1 B. x lucerna, NES 5 mg/l normal eingesteckt.
4 Monate altes Stück mit 3 ausgewachsenen Wurzeln und 4 Sprossanlagen. Wurzelhaare nicht gezeichnet.

Abb. 2 Das gleiche Stück von hinten.
Auf dem angeschwollenen Nervenende zahlreiche, nicht ausgewachsene Wurzelanlagen. Wurzeln nicht mehr gezeichnet.

Abb. 3 Das gleiche Stück 2 Monate später.
Eine Sprossanlage ist ausgewachsen.

Abb. 4 B. rex. NES 20 mg/l.
Zahlreiche ausgewachsene Organanlagen über die ganze Spreite.

Abb. 5 B. x lucerna. NES 20 mg/l. Normal eingesteckt, 1 Monat alt.
Zahlreiche Organanlagen über die ganze Spreite, jedoch nur 4 Anlagen ausgewachsen.

Abb. 6 B. x lucerna. NES 20 mg/l, normal eingesteckt, 6 Monate alt.
Eine Sprossanlage ist ausgewachsen.

Abb. 7 B. x lucerna. NES 1 mg/l + Adenin 40 mg/l, invers eingesteckt, 2 Monate alt.

Abb. 8 B. x lucerna. NES 5 mg/l + Adenin 40 mg/l, seitlich eingestecktes Stück, 40 Tage alt.

Abb. 9 Stengelstück der Form III. NES 10 mg/l, normal eingesteckt, 30 Tage alt.

Abb. 10 Stück der Form II. NES 5 mg/l, normal eingesteckt, 4 Monate alt.

Abb. 11 a) Form des Stengelstückes I: Oberstück.
b) Form des StengelstückesII: Mittelstück.
c) Form des StengelstückesIII:Unterstück.
d) Form des StengelstückesIV: im oberen Teil einen Knoten enthaltend, das Auge wurde jedoch entfernt.

Kurve 1 B. rex. Abhängigkeit der Organanlagen von der NES-Konzentration, ohne Quecksilberbehandlung.

Kurve 2 Wie bei Kurve 1, jedoch mit Quecksilberbehandlung.

Kurve 3 B. rex. Abhängigkeit der Organanlagen von der IES-Konzentration, ohne Quecksilberbehandlung.

Kurve 4 Wie bei Kurve 3, jedoch mit Quecksilberbehandlung.

Kurve 5 B. x lucerna, normal eingesteckt.
Einwirkung der NES-Konzentration auf die Zahl der Organanlagen.

Kurve 6 B. x lucerna, normal eingesteckt.
Einwirkung der NES-Konzentration auf die Zahl der auswachsenden Anlagen.

Kurve 7 B. x lucerna, normal eingesteckt.
Einwirkung der IES-Konzentration auf die Zahl der Organanlagen.

Kurve 8 B. x lucerna, normal eingesteckt.
Abhängigkeit der Zahl der Organanlagen von der NES-Konzentration bei 40 mg/l Adenin.

Kurve 9 B. x lucerna, normal eingesteckt.
Abhängigkeit der Zahl der Organanlagen von der NES-Konzentration bei 40 mg/l Guanin.

Kurve 10 B. x lucerna, normal eingesteckt-
Abhängigkeit der Zahl der Organanlagen von der Adenin-Konzentration bei 5 mg/l NES und

Kurve 11 0,5 mg/l NES.

Kurve 12 B. x lucerna, normal eingesteckt.
Abhängigkeit der Zahl der Organanlagen von der Guanin-Konzentration bei 5 mg/l NES und

Kurve 13 0,5 mg/l NES.

Kurve 14 B. x lucerna, invers eingesteckt.
Abhängigkeit der Zahl der Organanlagen von der NES-Konzentration bei 40 mg/l Adenin.

Kurve 15 B. x lucerna, invers eingesteckt.
Abhängigkeit der Zahl der Organanlagen von der NES-Konzentration bei 40 mg/l Guanin.

Kurve 16 B. x lucerna, normal eingesteckt.
Jahresrhytmus.

Tabellen.

Tabelle I

Art	An Blattstücken			An ganzen Blättern		
	Nekrose Verluste	Spross- anl.bei	Wurzel- anl.bei	Nekrose Verluste	Spross- anl.bei	Wurzel- anl.bei
B. x lucerna	6	0	14	1	0	9
B. tuberosa	84	0	0	7	0	0
B. semperfl.	89	0	0	0	10	10
B. goegoensis	7	93	93	1	9	9
B.rhizocaulis	21	78	78	0	10	10
B. cathayana	45	55	55	5	5	5
B. credneri	24	30	32	1	7	7
B. vitifolia	1	99	99	6	4	4
B. nelumbifol.	16	71	84	0	10	10
B. fagifolia	8	92	92	0	2	8
B. imperialis	0	100	100	2	8	8
B. rex	2	98	98	0	10	10

Tabelle II

Konzentration $HgCl_2$

	0,0001	0,0005	0,001	0,005	0,01	0,05	0,1	0,5 %
B.x lucerna	4	25	24	25	25	25	25	25
B.tuberosa	13	25	25	25	25	25	25	25
B.semperfl.	10	25	25	25	25	25	25	25
B.goegoensis	1	0	3	0	21	25	24	25
B.rhizocaulis	0	2	2	0	0	0	10	25
B.cathayana	6	11	22	25	25	25	25	25
B.credneri	2	2	0	3	25	23	25	25
B.vitifolia	0	20	25	25	25	25	25	25
B.nelumbifolia	1	1	2	1	1	3	1	25
B.fagifolia	5	3	5	6	17	25	25	25
B.imperialis	2	20	14	25	19	25	25	25
B.rex	0	1	0	0	0	1	0	16

Abb. 1

Abb. 2

Abb. 3

Abb. 4

Abb. 5

Tafel 2

Abb. 6

Abb. 7

Abb. 8.

Abb. 10

Abb. 9

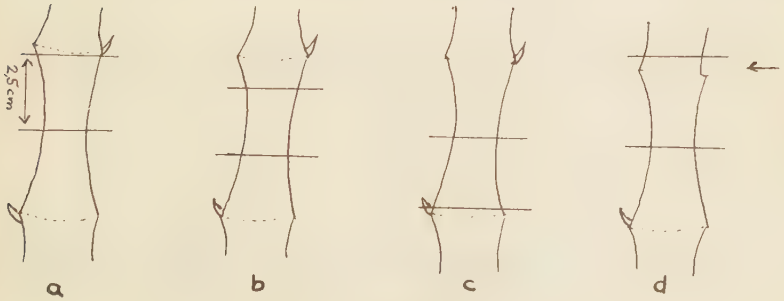
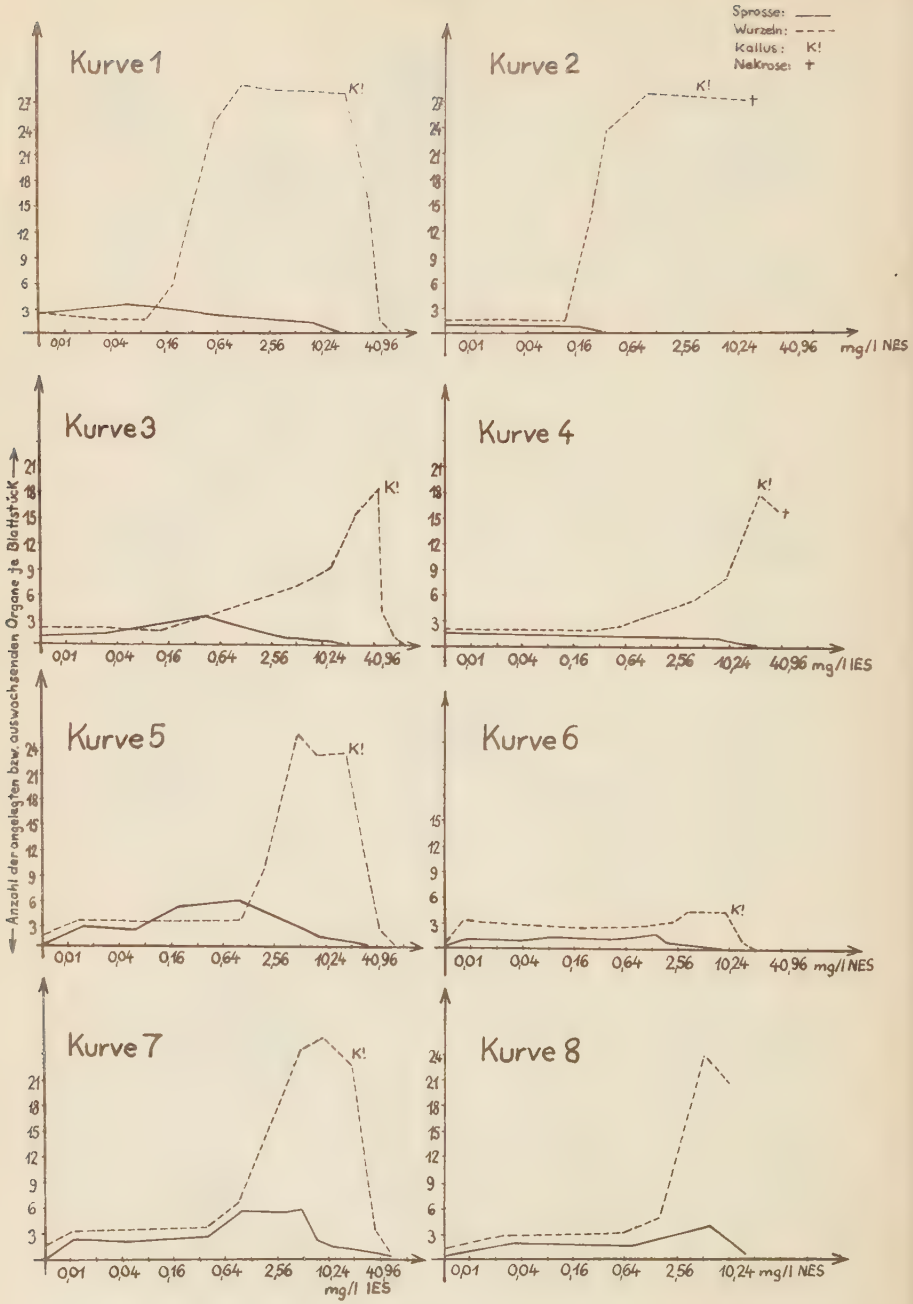
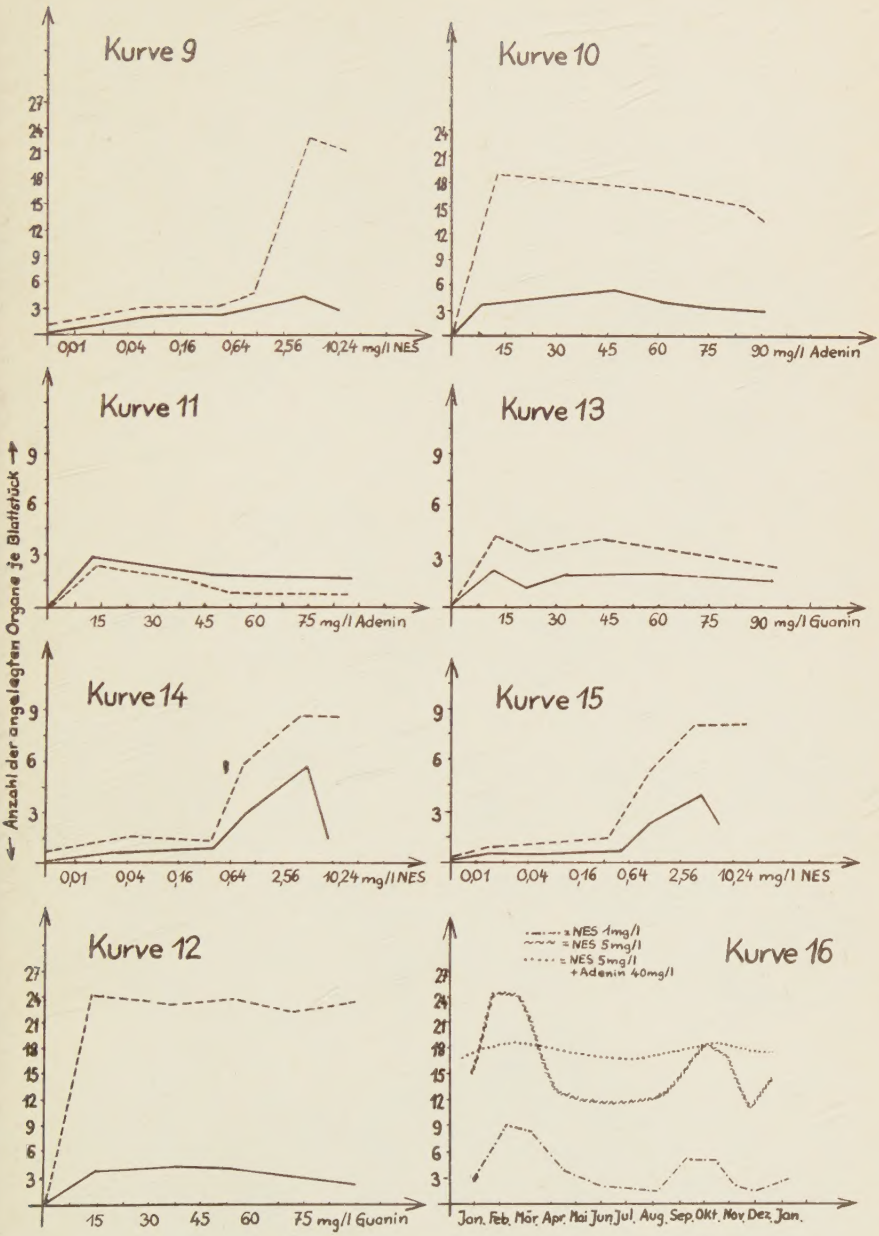


Abb. 11


Sprosse:
Wurzeln:
Kallus: K!
Nekrose: †
Kurve 1
Kurve 2
Kurve 3
Kurve 4
Kurve 5
Kurve 6
Kurve 7
Kurve 8
K!
†
0,01 0,04 0,16 0,64 2,56 10,24 40,96
mg/l NES
mg/l IES
— Anzahl der angelegten bzw. auswachsenden Organe je Blattstück —


Kurve 9
0,01 0,04 0,16 0,64 2,56 10,24 mg/l NES
Kurve 10
15 30 45 60 75 90 mg/l Adenin
Kurve 11
15 30 45 60 75 mg/l Adenin
Kurve 13
15 30 45 60 75 90 mg/l Guanin
← Anzahl der angelegten Organe je Blattstück →
Kurve 14
0,01 0,04 0,16 0,64 2,56 10,24 mg/l NES
Kurve 15
0,01 0,04 0,16 0,64 2,56 10,24 mg/l NES
Kurve 12
15 30 45 60 75 mg/l Guanin
= NES 1mg/l
= NES 5mg/l
= NES 5mg/l + Adenin 40mg/l
Kurve 16
Jan. Feb. Mär. Apr. Mai Jun. Jul. Aug. Sep. Okt. Nov. Dez. Jan.